Product sheet

Κύτταρα NRK-EGFP-H2B | 500724

Γενικές πληροφορίες

Description	Η κυτταρική σειρά NRK-EGFP-H2B είναι μια γενετικά τροποποιημένη παραλλαγή των φυσιολογικών νεφρικών κυττάρων αρουραίου (NRK) που εκφράζουν σταθερά την ενισχυμένη πράσινη φθορίζουσα πρωτεΐνη (EGFP) συνδεδεμένη με την ιστόνη H2B. Αυτή η τροποποίηση επιτρέπει την οπτικοποίηση σε πραγματικό χρόνο της χρωματίνης και της πυρηνικής δυναμικής, καθιστώντας αυτή την κυτταρική σειρά ένα ανεκτίμητο εργαλείο για τη μελέτη της εξέλιξης του κυτταρικού κύκλου, της μίτωσης και της οργάνωσης της χρωματίνης. Η σταθερή έκφραση του EGFP-H2B παρέχει ένα φωτεινό και σταθερό φθορίζον σήμα, διευκολύνοντας την απεικόνιση ζωντανών κυττάρων υψηλής ανάλυσης και επιτρέποντας στους ερευνητές να παρακολουθούν τα πυρηνικά συμβάντα με μεγάλη ακρίβεια. Τα κύτταρα NRK, που προέρχονται από τον νεφρικό ιστό ενός ενήλικου αρουραίου, χρησιμοποιούνται ευρέως στην κυτταρική βιολογία λόγω των ισχυρών χαρακτηριστικών ανάπτυξης και των καλά τεκμηριωμένων φυσιολογικών συμπεριφορών τους. Η εισαγωγή της πρωτεΐνης σύντηξης EGFP-H2B σε αυτά τα κύτταρα δεν μεταβάλλει σημαντικά την ανάπτυξη ή τη μορφολογία τους, επιτρέποντας αξιόπιστες και αναπαραγώγιμες πειραματικές συνθήκες. Αυτή η κυτταρική σειρά είναι ιδιαίτερα χρήσιμη σε μελέτες της βιολογίας των νεφρικών κυττάρων, των κυτταρικών αποκρίσεων στο στρες και των μηχανισμών καρκινογένεσης, δεδομένου του ρόλου του νεφρού στο φιλτράρισμα του αίματος και την αποβολή των αποβλήτων. Επιπλέον, οι δυνατότητες φθορισμού των κυττάρων NRK-EGFP-H2B μπορούν να αξιοποιηθούν σε εφαρμογές διαλογής φαρμάκων για την παρατήρηση των επιδράσεων των φαρμάκων στον κυτταρικό πολλαπλασιασμό και τη μορφολογία του πυρήνα σε πραγματικό χρόνο.
Organism	Αρουραίος
Tissue	Νεφρός
Synonyms	NRK EGFP-H2B

Χαρακτηριστικά

Breed/Subspecies	OsborneMendel
Morphology	Κύτταρα που μοιάζουν με ινοβλάστες και έχουν φουσκοειδές σχήμα
Growth properties	Μονοστρωματική, προσκολλημένη

Ρυθμιστικά δεδομένα

Citation	NRK-EGFP-H2B (αριθμός καταλόγου Cytion 500724)
Biosafety level	1

Κύτταρα NRK-EGFP-H2B | 500724

NCBI_TaxID	10116
CellosaurusAccession	CVCL_AV92
Depositor	Εργαστήριο Ellenberg (EMBL)

Βιομοριακά δεδομένα

Receptors expressed	Επιδερμικός αυξητικός παράγοντας (EGF), δραστηριότητα διέγερσης του πολλαπλασιασμού (MSA)
Protein expression	EGFP-H2B: Θέση/γονίδιο: 1..589 / Pcmv, 613..1329 / EGFP, 1387..1764 / H2B, 3001..3795 / KanR/NeoR
Products	Επιδερμικός αυξητικός παράγοντας (EGF), δραστηριότητα διέγερσης του πολλαπλασιασμού (MSA), CMV Promotor ιστόνη H2B, νεομυκίνη, φωσφοτρανσφεράση

Χειρισμός

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/L γλυκόζη, w: 4 mM L-γλουταμίνη, w: 3,7 g/L NaHCO3, w: 1,0 mM πυρουβικό νάτριο (αριθμός άρθρου Cytion 820300a)
Supplements	Συμπληρώστε το μέσο με 10% FBS, 0,5 mg/mL G418
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Απορρίψτε το παλιό μέσο και πλύνετε τα κύτταρα με PBS. Προσθέστε ένα φρεσκοπαρασκευασμένο διάλυμα θρυψίνης 0,025%/0,02% EDTA θερμαινόμενο στους 37 βαθμούς Κελσίου και περιμένετε μέχρι να αποκολληθούν τα κύτταρα, το οποίο συνήθως διαρκεί περίπου 5 λεπτά. Εξουδετερώστε τη θρυψίνη προσθέτοντας φρέσκο μέσο, στη συνέχεια μεταφέρετε το μείγμα κυττάρων σε ένα σωληνάριο και φυγοκεντρίστε. Μετά τη φυγοκέντρηση, αφαιρέστε το υπερκείμενο υγρό, ανασυσταθείτε το κυτταρικό σφαιρίδιο σε φρέσκο μέσο καλλιέργειας και μεταφέρετε το εναιώρημα σε νέες φιάλες. Ενσωματώστε το G418 στο μέσο καλλιέργειας ώστε να επιτευχθεί τελική συγκέντρωση 0,5 mg/ml
Seeding density	2 έως 4 x 10^4 κύτταρα/cm^2
Fluid renewal	2 έως 3 φορές την εβδομάδα

Κύτταρα NRK-EGFP-H2B | 500724

Freeze medium	Ως μέσο κρυοσυντήρησης, χρησιμοποιούμε πλήρες μέσο ανάπτυξης (συμπεριλαμβανομένου του FBS) + 10% DMSO για επαρκή βιωσιμότητα μετά την απόψυξη, ή CM-1 (αριθμός καταλόγου Cytion 800100), το οποίο περιλαμβάνει βελτιστοποιημένα ωσμοπροστατευτικά και μεταβολικούς σταθεροποιητές για την ενίσχυση της ανάκαμψης και τη μείωση του στρες που προκαλείται από την κρυοσυντήρηση.

Thawing and Culturing Cells

1. Επιβεβαιώστε ότι το φιαλίδιο παραμένει βαθιά παγωμένο κατά την παράδοση, καθώς τα κύτταρα αποστέλλονται σε ξηρό πάγο για να διατηρούνται οι βέλτιστες θερμοκρασίες κατά τη μεταφορά.

2. Κατά την παραλαβή, είτε αποθηκεύστε το κρυοφιαλίδιο αμέσως σε θερμοκρασίες κάτω των -150°C για να διασφαλίσετε τη διατήρηση της κυτταρικής ακεραιότητας, είτε προχωρήστε στο βήμα 3 εάν απαιτείται άμεση καλλιέργεια.

3. Για άμεση καλλιέργεια, αποψύξτε γρήγορα το φιαλίδιο βυθίζοντάς το σε υδατόλουτρο 37°C με καθαρό νερό και αντιμικροβιακό παράγοντα, αναδεύοντας απαλά για 40-60 δευτερόλεπτα μέχρι να παραμείνει ένα μικρό σβόλο πάγου.

4. Εκτελέστε όλα τα επόμενα βήματα υπό αποστειρωμένες συνθήκες σε απορροφητήρα ροής, απολυμαίνοντας το κρυοφιαλίδιο με 70% αιθανόλη πριν από το άνοιγμα.

5. Ανοίξτε προσεκτικά το απολυμασμένο φιαλίδιο και μεταφέρετε το εναιώρημα των κυττάρων σε ένα σωληνάριο φυγοκέντρησης των 15 ml που περιέχει 8 ml θρεπτικού μέσου καλλιέργειας σε θερμοκρασία δωματίου, αναμειγνύοντας απαλά.

6. Φυγοκεντρίστε το μείγμα στα 300 x g για 3 λεπτά για να διαχωριστούν τα κύτταρα και απορρίψτε προσεκτικά το υπερκείμενο που περιέχει το υπόλοιπο μέσο κατάψυξης.

7. Επανασυσσωματώστε απαλά το κυτταρικό σφαιρίδιο σε 10 ml φρέσκου μέσου καλλιέργειας. Για προσκολλημένα κύτταρα, μοιράστε το εναιώρημα σε δύο φιάλες καλλιέργειας T25- για καλλιέργειες εναιωρήματος, μεταφέρετε όλο το μέσο σε μία φιάλη T25 για να προωθήσετε την αποτελεσματική αλληλεπίδραση και ανάπτυξη των κυττάρων.

8. Τηρείτε τα καθιερωμένα πρωτόκολλα υποκαλλιέργειας για τη συνεχή ανάπτυξη και διατήρηση της κυτταρικής σειράς, εξασφαλίζοντας αξιόπιστα πειραματικά αποτελέσματα.

Incubation Atmosphere	37°C, 5%$_{CO2}$, υγροποιημένη ατμόσφαιρα.

Flask Coating

Για βέλτιστη προσκόλληση και βιωσιμότητα μετά την απόψυξη, συνιστούμε τη χρήση **φιαλών ή πλακών με επικάλυψη κολλαγόνου**.

Κύτταρα NRK-EGFP-H2B | 500724

Freezing Procedure	Οι κρυοσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78 °C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.
Shipping Conditions	Οι κρυοσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78 °C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.
Storage Conditions	Για μακροχρόνια συντήρηση, τοποθετήστε τα φιαλίδια σε υγρό άζωτο σε φάση ατμών σε θερμοκρασία περίπου -150 έως -196 °C. Η αποθήκευση στους -80 °C είναι αποδεκτή μόνο ως σύντομο ενδιάμεσο βήμα πριν από τη μεταφορά σε υγρό άζωτο.

Ποιοτικός έλεγχος / Γενετικό προφίλ / HLA

Sterility	Η μόλυνση από μυκόπλασμα αποκλείεται με τη χρήση τόσο των δοκιμασιών που βασίζονται στην PCR όσο και των μεθόδων ανίχνευσης μυκοπλάσματος με βάση τη φωταύγεια. Για να διασφαλιστεί ότι δεν υπάρχει μόλυνση από βακτήρια, μύκητες ή ζύμες, οι κυτταροκαλλιέργειες υποβάλλονται σε καθημερινές οπτικές επιθεωρήσεις.